

氏 名	北本 興市郎
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	第5435号
学位授与年月日	平成21年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項
学位論文名	Effects of Liposome Clodronate on Renal Leukocyte Populations and Renal Fibrosis in Murine Obstructive Nephropathy (マウス腎一側尿管閉塞モデルにおける liposome clodronate の腎内白血球浸潤および腎繊維化に対する効果の検討)
論文審査委員	主 査 教 授 仲谷 達也      副 査 教 授 岩尾 洋 副 査 教 授 三浦 克之

### 論文内容の要旨

【目的】 進行性腎疾患における腎機能の低下には腎間質の線維化が深く関わり、間質の線維化には単球系細胞の浸潤で特徴づけられる炎症反応が先行することが知られている。ビスホスホネートの1種である clodronate を内包した liposome の静注は血中や肝臓、脾臓内の単球系貪食細胞に選択的に取り込まれ減少させるため、マクロファージの関与を調べる目的でよく用いられている。しかし腎臓においてどのような炎症細胞に効果があるかは正確に評価されていない。腎線維化モデルである一側尿管閉塞 (UUO) マウスを用いて liposome clodronate 投与による腎内炎症細胞の変化を評価するとともに、それらが腎臓の線維化にどのように関与しているかを検討した。【方法】 雄性 C57BL/6J マウスを、リン酸生食を内包した liposome 投与群と liposome clodronate 投与群に分け UUO -3, -2, 0, 2, 4 日にそれぞれ静注した。左腎 UUO 作成 5 日後、麻酔下に両側腎を摘出した。摘出した腎臓を酵素処理し単離細胞を得、各白血球分画の表面抗原に対する蛍光抗体を用いてフローサイトメーターで各白血球分画の細胞数を計測した。【結果】 UUO により腎内のマクロファージ、樹状細胞、好中球、T リンパ球が増加した。liposome clodronate 投与により、マクロファージと F4/80 陽性樹状細胞は減少したが、F4/80 陰性樹状細胞、好中球、T リンパ球は影響を受けなかった。UUO で、腎間質の collagen III と  $\alpha$ -smooth muscle actin の染色性の増加とともに、尿細管細胞のアポトーシスが観察された。同時に MCP-1, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  および collagen III の mRNA 腎内発現が増加した。これらの変化は liposome clodronate により全て抑制された。【結論】 liposome clodronate により腎内のマクロファージと F4/80 陽性樹状細胞が選択的に除去されることが明らかとなった。さらにマクロファージと F4/80 陽性樹状細胞は、TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  を介して尿管閉塞における尿細管細胞のアポトーシス及び間質の線維化に関与していることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

慢性腎臓病に見られる進行性腎機能低下には腎間質の線維化が深く関わっていることが知られている。また、腎間質線維化には単球系細胞の浸潤で特徴づけられる炎症反応が先行することが知られている。一方、ビスホスホネートの1種である clodronate を内包した liposome は血中や肝臓、脾臓内の単球系貪食細胞に選択的に取り込まれこれを破壊するので、これらの細胞の病態生理学的意義を明らかにする目的で実験的によく用いられている。しかし liposome clodronate が腎臓においてどのような炎症細胞に作用して効果を発揮するのか正確には評価されていない。本研究は、腎線維化モデルである一側尿管閉塞 (UUO) マウスを用いて liposome clodronate 投与による腎内炎症細胞の変化を評価するとともに、それらが腎臓の線維化にどのように関与しているかを検討したものである。

実験には雄性 C57BL/6J マウスが用いられ、リン酸生食を内包した liposome 投与群と liposome clodronate 投与群に分け UUO 前後計 5 回静注し、左腎 UUO 作成 5 日後、麻酔下に両側腎を摘出した。摘出した腎臓を酵素処理し単離細胞を得、各白血球分画の表面抗原に対する蛍光抗体を用いてフローサイトメーターで各白血球分画の細胞数を計測した。

その結果、UUO により腎内のマクロファージ、樹状細胞、好中球、T リンパ球が増加した。liposome clodronate 投与によりマクロファージと F4/80 陽性樹状細胞は減少したが、F4/80 陰性樹状細胞、

好中球、T リンパ球は影響を受けなかった。また UUO 群では腎間質の collagen III と  $\alpha$ -smooth muscle actin の染色性の増加とともに、尿細管細胞のアポトーシスが観察された。同時に MCP-1, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  および collagen III の mRNA 腎内発現が増加した。これらの変化は liposome clodronate により全て抑制された。

以上より、liposome clodronate は腎内の炎症細胞のうち、マクロファージと F4/80 陽性樹状細胞を選択的に除去していることが明らかとなった。さらに、これらの細胞は、TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  を介して尿管閉塞時における尿細管細胞のアポトーシス及び間質の線維化に関与していることが示唆された。

本研究は尿管閉塞時に認められる腎線維化に関与する炎症細胞種とそれらの役割を明らかにしたもので、慢性腎臓病の病態解明と治療法の開発に寄与するものと考えられる。よって本研究は博士(医学)の学位を授与されるに値するものと判定した。